Untersuchungen über die sekretorische Tätigkeit des protoplasmatischen Epithels im Ohrlabyrinth der Elritze (Phoxinus laevis Agass.).

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Julius-Maximilian-Universität Würzburg

Vorgelegt von Toni Pleier
Aus dem Zoologischen Institut Würzburg

Würzburg 1954

Eingereicht am: 15. Januar 1954

Tag der mündlichen Prüfung am: 23. Februar 1954

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Referent: Professor Dr. Th. A. Wohlfahrt

Coreferent: Professor Dr. H. Autrum

Untersuchungen über die Funktion des protoplasmatischen Epithels im Ohrlabyrinth der Elritze (Phoxinus laevis Agass.).

I. Einleitung

1872 beschrieb *Retzius* Übergangszonen zwischen dem Sinnesepithel und dem Plattenepithel im Labyrinth des Hechtes. Er nannte diese Übergangszonen „protoplasmatisches Epithel", weil die Zellen auffallend dichtes Plasma enthielten. Seither befaßten sich zahlreiche Forscher mit diesem Gewebe, doch handelt es sich um reine Beschreibungen. Manche Verfasser nahmen eine sekretorische Funktion an, blieben jedoch den direkten Beweis für ihre Anschauung schuldig.

In neuerer Zeit untersuchte *Iwata* (1924) das Labyrinth der Fledermaus *(Pterygistes leisleri Kuhl)*. In seiner Arbeit beschrieb er ausführlich die der Schilderung von Retzius entsprechenden Gewebe und benannte sie nach ihrer Beschaffenheit „Regiones secretoriae". Er befaßte sich ausführlich mit dem Aussehen der Zellen und mit der Topographie ihres Vorkommens. *Kolmer* (1927) ist der Meinung, daß die der Stria vascularis so ähnlichen Strukturen und die innige Beziehung zu den Blutgefäßen auf eine sezernierende Tätigkeit schließen lassen. 1928 beschreibt *Cl. F. Werner* die Arten der Randepithelien im Zusammenhang mit den Randfaserungen und erwähnt das von Retzius beschriebene „protoplasmatische Epithel". *Hazama* (1928) schildert die Regiones secretoriae der Elritze, beschreibt jedoch nur die Beschaffenheit, Form und Topographie des Gewebes. *Wohlfahrt* untersuchte (1932) diese Region und kam morphologisch zu ähnlichen Ergebnissen wie *Hazama* und *Iwata*. *Berggren* (1935) bringt nur die Anordnung der Epithelien im Innenohr.

Da bis jetzt noch keine eindeutige Einsicht in die Funktion des genannten Gewebes besteht, soll im Folgenden versucht werden, die von den Autoren als wahrscheinlich hingestellte Sekretionstätigkeit unmittelbar nachzuweisen.

II. Material und Methoden

Für die Serien, die über die Topographie und normale Beschaffenheit des in Frage stehenden Gebietes Aufschluß geben sollten, wurden unvorbehandelte Tiere benützt. Um in den vermuteten Sekretionszyklus einzugreifen, wurden andere Tiere einerseits mit Pilocarpin oder Coffein, andererseits mit Atropin behandelt. Erstere wirken sekretionsfördernd,

letzteres hat sekretionshemmende Wirkung. Es ist dabei von Vorteil, daß auf Pilocarpin und Coffein nur zur Sekretion prädestiniertes Epithel sezerniert.

Coffein kam in einer Konzentration von 0,001 : 100,0 g in Anwendung. Nach Austesten verschiedener Konzentrationen wurde die Pilocarpindosis auf 0,002 : 100,0 g festgelegt.

III. Der Bau des Übergangsepithels im Ohrlabyrinth der Elritze. („Protoplasmatisches Epithel")

Das Übergangsepithel, welches zwischen Platten- und Sinnesepithel eingeschoben ist, weist meist verschiedene Ausbildung auf. Zum Übergangsepithel gehört besonders der Bereich des protoplasmatischen Epithels. Er ist durch Zellen der „intermediären" Zone *(Berggren)* von den Sinneszellen getrennt.

Die Form der Zellen des protoplasmatischen Epithels ist sehr mannigfaltig. Teilweise trifft man abgerundete breite, teilweise wieder hohe zylindrische Zellen. Nicht selten findet man zwischen regelmäßig geformten Zellen unregelmäßige Sanduhr- und Flaschenformen. Die Kerne sind rund bis oval, ihre Größe ist ziemlich konstant. Gelegentlich finden sich in den Zellen zwei Kerne. Eine Abhängigkeit der Doppelkernigkeit von der Zellgröße konnte nicht beobachtet werden, ebensowenig scheint eine Beziehung zwischen Doppelkernigkeit und Plasmadichte zu bestehen. Manchmal zeigen die Kerne leichte Eindellungen. *Iwata* beschreibt solche Eindellungen an den entsprechenden Zellen im Labyrinth der Fledermaus *(Pterygistes leisleri)* auf der der Zellachse zugekehrten Seite, wobei in der Mitte der Zellen das Plasma stets dicht granuliert sei. Im Verlauf meiner Untersuchungen zeigte sich, daß vor allem die abgerundeten Zellen einen mehr oder weniger eingedellten Kern haben können, der stark exzentrisch und mitunter bis an die Zellwand angedrückt liegt, wie an günstig getroffenen Schnitten zu sehen ist. Im allgemeinen liegen die Kerne basal oder medial, seltener im Apex der Zelle, im Gegensatz zu den Befunden *Iwatas* an *Pterygistes*. In schmalen Zellen ist der Kern meist in der Längsachse gestreckt. Die Zellkerne des protoplasmatischen Epithels sind chromatinreich.

Die Zellen des protoplasmatischen Epithels unvorbehandelter Tiere erschienen nach Osmiumimprägnation durchwegs mehr oder weniger gebräunt. Zwischen der Grundmembran und dem Zellkern, seltener in Höhe der Kerne, trifft man mitunter durch Osmium geschwärzte Kügelchen an. Medial und apikal treten oft schwarze Substanzen mit hellen

Inhalt auf, wodurch sie im optischen Schnitt wie kleine schwarze Ringe aussehen. Diese osmiophilen Einschlüsse nehmen apikalwärts ab. Im Apex finden sich tropfenähnliche helle Plasmazonen. Eigenartigerweise findet man nur selten in Zellen, die schwarze Ringe zeigen, zugleich schwach lichtbrechende Plasmabezirke; dagegen sind häufig in Zellen mit apikalen hellen Plasmazonen basal geschwärzte Kügelchen zu beobachten. Wie schon erwähnt, zeigen sich verhältnismäßig oft zwischen den unregelmäßigen Zellformen Sanduhr- und Flaschenformen. Osmierte Präparate ergaben, daß solche Formen durch die Lage der hellen Plasmabezirke verursacht werden, in deren Höhe die Zellen erweitert sind. Liegen diese Zonen medial, so hat die Zelle tonnenförmige Gestalt, während apikale Lage die Sanduhrformen verursacht. Es hat sich nun gezeigt, daß gerade die runden bis kubischen Zellen, die nach einfacher Hämatoxylin-Eosin-Färbung durch dichtes Plasma und eingedellten Kern auffallen, osmiophile Substanzen aufweisen, während in den zylindrischen Zellen die hellen Plasmazonen zu finden sind. Vereinzelt beobachtet man Zellen, die „leer" erscheinen, diese sind dann meist schmal und zylindrisch im Gegensatz zu den im Präparat mehr oder weniger stark gebräunten Zellen, die rund bis kubisch sind.

Das protoplasmatische Epithel hat eine gut ausgebildete Basalmembran, der sehr oft Kapillaren eng anliegen.

Iwata (1924) beschrieb an der freien Oberfläche der Zellen „Vorragungen", die etwas heller als das Plasma der Zellen sind. Er deutet sie als Sekretionsstadien. *Wohlfahrt* (1932) sah derartige Vorwölbungen ebenfalls. Seiner Meinung nach handelt es sich um Artefakte nach Einwirkung des Fixierungsgemisches. Auf meinen Präparaten traten solche Erscheinungen mitunter in Menge auf, worüber im Folgenden ausführlich zu sprechen ist.

IV. Veränderungen im Labyrinthepithel nach Behandlung mit Pilocarpin, Coffein und Atropin

Vergleicht man Präparate von normalen Tieren mit solchen, die mit Pilocarpin- oder Coffeinlösung vorbehandelt waren, so kann man schon nach kurzer Betrachtung am protoplasmatischen Epithel und am Sinnesepithel des vorbehandelten Materials ein geändertes Bild feststellen. Zwischen einzelnen von Osmium stark gebräunten Zellen treten andere auf, die „leer" erscheinen. Ihr Plasma ist nur ganz schwach granuliert, der Kern ist nur wenig gebräunt. Sie sind flaschenförmig, und nicht

selten findet man sie mit einem austretenden Tröpfchen versehen. Es zeigte sich, daß die mit Alkaloidlösung behandelten Tiere je nach der Konzentration und der Art der Lösung wesentlich häufiger als normale Tiere diese Abscheidungen zeigten. Daraufhin wurden im gesamten Bereich des protoplasmatischen Epithels am Utriculusboden von 15 mit Pilocarpin 0,002 : 100 g vorbehandelten Tieren Zelle für Zelle durchgesehen und zusammen rund tausend Zellen mit tröpfchenförmigen Abscheidungen festgestellt. In 15 ebenso untersuchten Vergleichsserien, die von unvorbehandelten Tieren stammten, konnten im selben Bereich nur 130 Zellen mit solchen Abscheidungen gefunden werden. Es waren also bei den vorbehandelten Tieren etwa achtmal mehr Tröpfchenbildungen an den Zellen des protoplasmatischen Epithels im Utriculusboden vorhanden, als an nicht vorbehandelten.

Die nach osmierten Schnitten durch unvorbehandelte Tiere beschriebenen schwarzen Kügelchen sind nach Vorbehandlung mit Pilocarpin oder Coffein stark vermehrt. Ebenso ist eine auffallende Zunahme der geschwärzten Ringe mit hellem Inhalt gegenüber der Häufigkeit dieser Formen bei nicht vorbehandelten Tieren feststellbar. Diese Ringe liegen meist sehr eng aneinander, häufig sogar übereinander, so daß sie oft den Eindruck erwecken, es handle sich um ein Netzwerk. Je apikaler die Bildungen liegen, umso größer wird der innere helle Anteil. Sehr viele Zellen zeigen helle apikale Plasmabezirke. In der Folge trifft man bei vorbehandelten Exemplaren besonders oft sanduhrförmige Zellen an. Schwächer lichtbrechende Apikalzonen traten bei Auszählung von etwa hundert Zellen des Utriculusbodens bei den unvorbehandelten Tieren in 26 Zellen auf, bei den mit Pilocarpinlösung, 0,0125 : 500,0 g vorbehandelten Tieren in 80 Zellen, also bei vorbehandelten Tieren etwa dreimal häufiger als bei unvorbehandelten. Immer wieder konnte die Feststellung gemacht werden, daß die stark osmiumimprägnierten Zellen rund bis kubisch sind, während die schwächer angefärbten Zellen mit hellen Plasmabezirken oder Zellen, auf denen ein Tröpfchen sitzt, zylindrische Form haben.

Im Gegensatz zu der Reaktion des protoplasmatischen Epithels auf Pilocarpin- oder Coffeinbehandlung wurden nach Verabreichung von Atropin keinerlei Besonderheiten festgestellt.

Das deutliche Ansprechen des protoplasmatischen Epithels auf die oben angeführten Alkaloide macht bei der spezifischen Wirkung dieser Stoffe seine sekretorische Tätigkeit schon durchaus wahrscheinlich, die geschil-

derte unterschiedliche Gestaltung der Zellen nach verschiedenen Vorbehandlungen ist jedoch nach der Literatur ein sicheres Zeichen für sekretorische Funktion. Für Sekretion besonders charakteristisch ist das vermehrte Auftreten von Golgi-Substanzen in den das Sekret restituierenden Zellen, wodurch die Phasen der Funktion sichtbar zum Ausdruck gebracht werden. Zweifellos sind die so auffallenden schwarzen Einschlüsse in den Zellen des protoplasmatischen Epithels als „Golgi-Körper" aufzufassen, umsomehr, als der deutlich sichtbare Übergang in die schwach lichtbrechenden Tröpfchen auf die Bildung der Sekretsubstanzen hinweist. Nach G. Ch. *Hirsch* (1939) ist der „Golgi-Körper" kein starres System, wie ältere Autoren annahmen, sondern ein zellphysiologisches Zustandsbild. Demnach sind die osmiophilen Kügelchen als Golgi-Präsubstanzen und die geschwärzten Ringe als Golgi-Substanzen in den verschiedenen Stadien aufzufassen. Bei meinen Untersuchungen hat sich gezeigt, daß die Granula, welche von *Hirsch* als Golgi-Produkte bezeichnet wurden, nicht in dieser Form extruiert werden, sondern noch eine Umformung mitmachen. Die Sekretblasen werden in das Innenohrlumen ausgestoßen und treten dabei im histologischen Bild als die beschriebenen tröpfchenförmigen Vorwölbungen in Erscheinung. Nach Überdosierung von Pilocarpin oder Coffein wird die Sekretion so gewaltig beschleunigt, daß außer den massenhaften Sekrettröpfchen mitunter ganze Zellen abgestoßen werden, was normal niemals gefunden wurde. Die sekretorische Tätigkeit hat einen umfangreichen Stoffwechsel zur Folge. Ihm werden die großen chromatinreichen Kerne umso erfolgreicher gerecht, als sie häufig doppelt auftreten, wodurch für die Reaktion zwischen Kern und Plasma eine größere Berührungsfläche zur Verfügung steht. In demselben Sinn bewirkt die enge Nachbarschaft der Regiozellen mit den Kapillaren an der Zellbasis die Möglichkeit eines besonders wirksamen Stoffaustausches zwischen dem Blut und dem protoplasmatischen Epithel. Die Korrelation in der Funktion der beiden Systeme zeigt besonders auffallend die Tatsache, daß nach Verabreichung von Pilocarpin oder Coffein im Stadium extremer Sekretion die Kapillaren mit Erythrozyten vollgefüllt waren, was bei normalen Vergleichstieren niemals in nennenswertem Ausmaße beobachtet werden konnte.

Sämtliche bisher geschilderten Tatsachen und Folgerungen stehen gut miteinander im Einklang und geben *Iwata* recht, der das protoplasmatische Epithel der Autoren als Regio secretoria ansprach.

V. Literaturverzeichnis

Berggren, Sven, M.: Über das Vorkommen von verschiedenen Epithelzonen um die Sinnesendstelle des Labyrinths. Anat. Anz. **80**, 321 — 331 (1935).

Hazama: Die absondernden Elemente des Wirbeltierlabyrinths. Z. Anat. **88**, 223 — 261 (1928).

Hirsch, G. Ch.: Form und Stoffwechsel der Golgi-Körper. Protoplasma-Monographie 18, Berlin 1939.

Iwata, N.: Über das Labyrinth der Fledermaus mit besonderer Berücksichtigung des statischen Apparates . Aichi J. exper. Med. **1**, 41 — 173 (1924).

Kolmer, W.: Das Gehörorgan. Handbuch der mikrosk. Anatomie des Menschen III/1, Berlin, 1927.

Retzius, G.: Anatomische Untersuchungen. I. Das Gehörlabyrinth der Knochenfische. Stockholm 1872.

Werner, Cl. F.: Studien über die Otolithen der Knochenfische. Z. f. Zool. **131**, 502 — 587 (1928).

Wohlfahrt, Th. A.: Anatomische Untersuchungen über das Labyrinth der Elritze. Z. f. vergl. Physiol. **17**, 659 — 685 (1932).

Druck: Buchdruckerei Georg Gesele Aschaffenburg, Weißenburger Str. 52